

PCT/JP03/04997

18.04.03

REC'D 09 MAY 2003

WIPO

PCT

PA 985813

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

April 02, 2003

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

BEST AVAILABLE COPY

APPLICATION NUMBER: 60/374,814

FILING DATE: April 24, 2002

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)


By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS



L. Edele

L. EDELEN

Certifying Officer

Please type a plus sign (+) inside this box → 

Approved for use through 10/31/2002. OMB 0651-0033
U.S. Patent and Trademark Office, U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it displays a valid OMB control number.

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET
This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 CFR 1.53(c).

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)

Given Name (first and middle [if any])	Family Name or Surname	Residence (City and either State or Foreign Country)	
Yoshiaki MIYOTA		Kawasaki	JAPAN
Makoto SAITO		Kawasaki	JAPAN
Hiroshi ISHII		Kawasaki	JAPAN

☐ Additional inventors are being named on the _____ separately numbered sheet(s) attached hereto

TITLE OF THE INVENTION (280 characters max)

SOLID FEED FOR FISH UNDER BREEDING AND PRODUCTION PROCESS THEREOF

CORRESPONDENCE ADDRESS

Direct all correspondence to the address for SUGHRUE MION, PLLC filed under the Customer Number listed below:



23373

PATENT TRADEMARK OFFICE

ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)

<input checked="" type="checkbox"/> Specification (Japanese language)	Number of Pages	13	<input type="checkbox"/> CD(s), Number	
<input type="checkbox"/> Drawing(s)	Number of Sheets		<input type="checkbox"/> Other (specify)	
<input type="checkbox"/> Application Data Sheet. See 37 CFR 1.76				

METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

- ☐ Applicant claims small entity status. See 37 CFR 1.27
- ☒ A check or money order is enclosed to cover the Provisional filing fees. The PTO is authorized to charge any additional fee or credit any overpayment to keep this provisional application pending in the Patent and Trademark Office to our Deposit Account No. 19-4880.
- ☐ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees or credit any overpayment to our Deposit Account No. 19-4880

FILING FEE
AMOUNT(\$)

\$160.00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

- ☒ No.
- ☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:

Respectfully submitted,

SIGNATURE

Bruce E. Kramer

DATE April 24, 2002

TYPED or PRINTED NAME

Bruce E. Kramer

REGISTRATION NO. 33,725

TELEPHONE NO. 202-293-7060

DOCKET NO. P69756

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

This collection of information is required by 37 CFR 1.51. The information is used by the public to file (and by the PTO to process) a provisional application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 8 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the complete provisional application to the PTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Office, U.S. Patent and Trademark Office, U.S. Department of Commerce, Washington, D.C., 20231. DO NOT SEND FEES OR COMPLETE FORMS TO THIS ADDRESS: SEND TO: Box Provisional Application, Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

United States Patent & Trademark Office
Office of Initial Patent Examination

Application papers not suitable for publication

SN. 60,374,814

Mail Date 4-24-02

☒ Non-English Specification

☐ Specification contains drawing(s) on page(s) _____ or table(s) _____

☐ Landscape orientation of text ☐ Specification ☐ Claims ☐ Abstract

☐ Handwritten ☐ Specification ☐ Claims ☐ Abstract

☐ More than one column ☐ Specification ☐ Claims ☐ Abstract

☐ Improper line spacing ☐ Specification ☐ Claims ☐ Abstract

☐ Claims not on separate page(s)

☐ Abstract not on separate page(s)

☐ Improper paper size -- Must be either A4 (21 cm x 29.7 cm) or 8-1/2"x 11"

☐ Specification page(s) _____

☐ Abstract

☐ Drawing page(s) _____

☐ Claim(s)

☐ Improper margins

☐ Specification page(s) _____

☐ Abstract

☐ Drawing page(s) _____

☐ Claim(s)

☐ Not reproducible

Section

Reason

☐ Specification page(s) _____

☐ Paper too thin

☐ Drawing page(s) _____

☐ Glossy pages

☐ Abstract

☐ Non-white background

☐ Claim(s)

☐ Drawing objection(s)

☐ Missing lead lines, drawing(s) _____

☐ Line quality is too light, drawing(s) _____

☐ More than 1 drawing and not numbered correctly

☐ Non-English text, drawing(s) _____

☐ Excessive text, drawing(s) _____

☐ Photographs capable of illustration, drawing(s) _____

2025 RELEASE

【書類名】 明細書

【発明の名称】 養魚用固形飼料およびその製造方法

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明はアスコルビン酸活性を有し、かつ飼料中で安定な、特に経時的に安定なアスコルビン酸誘導体を含有する養魚用固形飼料、およびその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

養殖魚類において、L-アスコルビン酸が欠乏または不足すると壊血病症状を呈し死に至るなどの重大な被害が発生することが知られている。例えば、1962年に各地のニジマス養魚場で脊椎のわん曲を主徴とする異常魚が多発したが、研究の結果、アスコルビン酸の不足によることが証明された（日本水産学会31巻第818頁～826頁）。さらに、昭和42年日本水産学会年会でニジマス、ヒメマスおよびシロザケ稚魚のアスコルビン酸欠乏による変形症が報告されている。また、アユでは食欲不振、軽度の眼球突出、ヒレ基部の出血、えらぶた、下頭部の損傷などの欠乏症、ハマチ稚魚では接餌量減少、成長停止、脊椎わん曲、体色異変、高へい死率などの欠乏症、ウナギでは食欲低下、成長停滞の他、ヒレ、頭部の出血などが起こる。さらに、ニジマス、ヒメマス、シロザケ、アユ、ヤマメ、カンパチ、ハマチ、タイ、コイ、ウナギなどの養殖に供される魚類は飼育中のストレスなどで天然魚に比較してアスコルビン酸要求量が高く飼料中のアス

コルビン酸が不可欠である。

【0003】

従って、稚魚飼料にはアスコルビン酸を含むビタミン類が添加され、給餌されている。ところが、アスコルビン酸は水溶性ビタミンの中でも特に不安定なものであるため、飼料中に添加した場合に分解が起こる。とりわけ、蛋白源である魚粉中では特に不安定であり、ニジマス用飼料のように魚粉が半ば以上を占めるような配合のものでは分解によってビタミンCの力価が大きく低下する。

また、製造時において、エクストルーダーでの加圧、高温条件成型する際にアスコルビン酸の分解が非常に大きいことが特開平11-056256号公報に記載されている。同特許公報には、エクストルーダーで成型したペレットに水溶性ビタミン乳化液を添加することが記載されているが、これはエクストルーダーによる分解を回避するためと考えられる。

【0004】

これらの問題を解決するための技術として安定化ビタミンCであるL-アスコルビン酸-2-リン酸エステルの塩類を配合する技術がある（特許2943785号公報）。しかしながら、本発明者らの知見によれば、養魚用固形飼料を大径化したり、植物油および／または動物油を多量に含有せしめると、安定化ビタミンCであっても添加量の50質量%以上が分解する場合がある。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

上記のような状況に鑑み、本発明の目的は、十分なビタミンC力価を有し、しかも経時的に安定な養魚用固形飼料を提供することにある。特に、固形飼料を大径化したり、固形飼料中に植物油および／または動物油を多量に含有せしめても十分なビタミンC力価を保ち、かつ経時安定性にも優れた養魚用固形飼料を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは鋭意研究を重ねた結果、固形飼料を大径化したり、植物油および／または動物油の含有量を増大すると、L-アスコルビン酸-2-リン酸エステ

ルの塩類を始めとする安定化ビタミンCが分解されるのは、アスコルビン酸とは異なり、エクストルーダーでの成型工程後の乾燥工程で顕著であることが分かった。そして安定化ビタミンCを乾燥後の飼料に添加・調製した養魚用固形飼料は、添加した安定化ビタミンCの大部分が製品飼料中に残存し、十分なビタミンC力価を保ち、かつ経時安定性にも優れていることを見だし、本発明を完成するに至った。

【0007】

かくして、本発明は、下記の養魚用固形飼料、およびその製造方法を提供するものである。

【0008】

養魚用固形飼料

- (1) 養魚用固形飼料であって、表面から深さ1mm以内に飼料中の安定化ビタミンCの50質量%以上が存在していることを特徴とする養魚用固形飼料。
- (2) 養魚用固形飼料であって、表面から深さ1mm以内の安定化ビタミンCの濃度が100ppm以上であることを特徴とする養魚用固形飼料。
- (3) 植物油および/または動物油を10質量%以上含む上記(1)または(2)に記載の養魚用固形飼料。
- (4) 飼料中の安定化ビタミンCの含有量が100～5000ppmである上記(1)～(3)のいずれかに記載の養魚用固形飼料。
- (5) 水分含有量が10質量%以下である上記(1)～(4)のいずれかに記載の養魚用固形飼料。
- (6) 直径が11mm以上である上記(1)～(5)のいずれかに記載の養魚用固形飼料。
- (7) 安定化ビタミンCがL-アスコルビン酸-2-リン酸エステルの塩である上記(1)～(6)のいずれかに記載の養魚用固形飼料。
- (8) ニジマス、ヒメマス、シロザケ、アユ、アマゴ、ヤマメ、カンパチ、ハマチ、タイ、コイまたはウナギの飼料である上記(1)～(7)のいずれかに記載の養魚用固形飼料。

【0009】

養魚用固形飼料の製造方法

(9) 養魚用飼料の混練物を成形し、得られた成形物を乾燥し、次いで、乾燥された成形物を、液体に溶解、乳化または分散させた安定化ビタミンCと接触させることを特徴とする上記(1)～(8)のいずれかに記載の養魚用固形飼料の製造方法。

(10) 成形物を110℃以上の温度で乾燥する上記(9)に記載の養魚用固形飼料の製造方法。

(11) 成形物を2時間以上かけて乾燥する上記(9)または(10)に記載の養魚用固形飼料の製造方法。

【0010】

(12) 植物油および／または動物油を含む液体を用いる上記(9)～(11)のいずれかに記載の養魚用固形飼料の製造方法。

(13) 加温混練機を使用して、養魚用飼料の混練物を製造する上記(9)～(12)のいずれかに記載の養魚用固形飼料の製造方法。

(14) 乾燥された成形物を、液体に分散させた安定化ビタミンCと接触させる上記(9)～(13)のいずれかに記載の養魚用固形飼料の製造方法。

(15) 製造直後の飼料中の安定化ビタミンCの量が添加した安定化ビタミンCの量の60質量%以上である上記(9)～(14)のいずれかに記載の養魚用固形飼料の製造方法。

【0011】

【発明の実施の形態】

本発明で使用される安定化ビタミンCとしては、L-アスコルビン酸-2-リン酸エステルの塩、L-アスコルビン酸-2-グリコシドなどが挙げられるが、天然型ビタミンCよりも経時安定性が優れ、生体内においてビタミンCに転換されるものならば種類を問わない。特に好ましいものとしてL-アスコルビン酸-2-リン酸エステルのマグネシウム塩、カルシウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩およびそれらの混塩がある。

【0012】

本発明の養魚用固形飼料は、養魚用固形飼料であって、表面から深さ1mm以内

に飼料中の安定化ビタミンCの総量の50質量%以上が存在するか、および／または、表面から深さ1mm以内の安定化ビタミンCの濃度が100ppm以上であることを特徴としている。

表面から深さ1mm以内に存在する安定化ビタミンCの量は、好ましくは、飼料中の総量の60質量%以上、より好ましくは65質量%以上である。存在する安定化ビタミンCの量に格別上限はないが、通常、約95%程度である。また、表面から深さ1mm以内の安定化ビタミンCの濃度は、好ましくは200ppm以上、より好ましくは250ppm以上である。この安定化ビタミンCの濃度に、格別上限はないが、通常、約1.5質量%程度である。

【0013】

本発明の養魚用固形飼料のように、表面近傍に多割合または多量の安定化ビタミンCが存在する養魚用固形飼料を調製するには、好ましくは、養魚用飼料の混練物を成形し、得られた成形物を乾燥し、次いで、乾燥された成形物を、液体に溶解、乳化または分散させた安定化ビタミンCと接触させる。

養魚用固形飼料に安定化ビタミンCを添加するには、安定化ビタミンCを溶解、乳化または分散させた液体を、乾燥した固体飼料と接触させるが、その方法は問わない。液体の種類に関してもその種類は問わないが、水を含む液体の場合は再乾燥の必要が生じ、工程が長く煩雑になることに加え、再乾燥の際に再び分解の恐れがあり好ましくない。また、安定性の点からも分散したスラリー状態で接触させることが好ましい。溶解、乳化と比較し水との接触頻度が大幅に低下し、加水分解に対する安定性が向上する。

【0014】

分散させる溶媒の特に好ましいものとして飼料添加用の植物油および動物油を挙げることができる。飼料添加用の植物油および動物油としては、豆油、なたね油、コーン油、ごま油、綿実油、サフラワー油、ひまわり油、落花生油、米胚芽油、小麦胚芽油、ツバキ油、パーム油、オリーブ油、ホホバ油、マカデミアンナッツ油、アボガド油、ヒマシ油、アマニ油、シソ油、ユーカリ油、月見草油、タートル油、ミンク油、豚脂、牛脂、魚油などの植物油、動物油が使用される。これらの植物油、動物油は単独で用いても、混合して用いても構わない。

【0015】

乳化する場合には、乳化剤を用いるが、その例としては、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、有機酸モノグリセリド、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ジグリセリド、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、レシチン、シリコーン系界面活性剤およびアルキレンオキサイド付加界面活性剤などが挙げられる。具体例としては、ソルビタンモノオレート、ソルビタンジステアレート、ポリオキシエチレン（6モル）ソルビタンモノステアレート、グリセリンモノステアレート、グリセリンモノリノレート、クエン酸とグリセリンモノオレートのエステル化物、プロピレングリコールモノステアレート、グリセリンジオレート、グリセリンジリノレート、なたね油とグリセリンのエステル交換により得られたジグリセリド、サフラワーとグリセリンのエステル交換により得られたジグリセリド、ジグリセリンジステアレート、ジグリセリントリステアレート、ヘキサグリセリントリオレート、ヘキサグリセリンペンタステアレート、テトラグリセリン縮合リシノレート、ポリグリセリン縮合リシノレイン酸エステル、ショ糖トリないしペンタステアリン酸エステル、ポリオキシエチレン（5モル）セチルエーテル、ポリオキシエチレン（3モル）ノニルフェニルエーテル、ポリオキシエチレン（6モル）ステアリルエーテル、ポリオキシエチレン（5モル）硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレン（15モル）硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレン（20モル）ソルビトールテトラオレート、レシチン（日清製油（株）製、レシチンDX、ベシスLP-20）及びジメチルシロキサン・メチル（ポリオキシエチレン5モル付加）シロキサン共重合体、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、リゾレシチン、サポニン、糖脂質、蛋白質、蛋白分解物（ゼラチンを除く）、シリコーン系界面活性剤、アルキレンオキサイド付加界面活性剤などがある。具体的には、ショ糖ステアリン酸モノエステル、ヘキサグリセリンオレイン酸モノエステル、デカグリセリンステアリン酸モノエステル、酵素分解レシチン（日清製油（株））、ベシスLG-10K、ベシスLP-20E）、キラヤサポニン、大豆蛋白分解物、カゼインナトリウム、ジメチルシロキサン・メチル（ポリオキシエチレン60モル付加）シロキサン共重合体、ポリオキシエチレン（25モル）硬化ヒマシ油および

ポリオキシエチレン（80モル）硬化ヒマシ油などが挙げられる。

【0016】

接触の方法としては安定化ビタミンCが飼料重量に対し100～5000ppm程度、より好ましくは100～2000ppmが含まれるようにすることが可能な方法が採られる。例えば、①飼料を液中に浸漬、②液を飼料に塗布、③液を飼料に噴霧、などが挙げられる。

【0017】

本発明の養魚用固形飼料の一態様においては、安定化ビタミンCが主として、表面に付着されているが、付着の強さに関しては特に規定はなく、製造後消費地に運送するまでの間大部分がはがれ落ちなければよい。これには前述のように安定化ビタミンCを分散したオイル中に乾燥後の飼料を浸漬することや、安定化ビタミンCを分散したオイルを噴霧することによって十分目的を達せられる。

固形飼料中に含まれる動物油および／または植物油の量は、好ましくは10質量%以上、より好ましくは20質量%以上、特に好ましくは25質量%以上である。

【0018】

動物油および／または植物油を吸収しやすくするために養魚用固形飼料中の水分は10質量%以下、より好ましくは5質量%以下にまで乾燥することが好ましい。これより水分量が多いと動物油および／または植物油の吸収が悪く、当然安定化ビタミンCの付着の効率も低下する。これより水分量が少なくなるまで乾燥すると乾燥に長時間を要し有効成分の分解が生じ好ましくない。

【0019】

本発明で述べている乾燥工程とは、加温混練機で成型した後の乾燥工程のことである。使用される加温混練機は、格別限定されることはなく、例えば、エクストルーダーなどが用いられる。乾燥は、通常110℃以上の温度で、2時間以上の時間で実施されている。溶解または乳化またはけん濁した安定化ビタミンCをこの乾燥工程後に付着させるが、その後さらに風乾、低温での乾燥処理などをしてよい。その際は安定化ビタミンCが分解しない温度、例えば、90℃以下で行うことが好ましい。

【0020】

本発明の固形飼料中には、安定化ビタミンCが高い割合で存在している。通常、製造直後の固形飼料中の安定化ビタミンCの量は、添加した安定化ビタミンCの60%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上である。

固形飼料の形態は格別限定されないが、円柱状、球状、断面が長円形のものなどがある。特に、エクストルーダーを用いて造ったドライペレットと呼ばれる円柱状のものが広く用いられる。固形飼料の大きさは、直径が11mm以上であることが好ましい。より好ましくは12mm以上、特に好ましくは13mm以上である。

【0021】

本発明の飼料に含まれる安定化ビタミンC以外の成分は特に制約はない。代表的なものとしては、一般に養魚用飼料に添加される穀類、豆類、イモ類、油粕類、ヌカ類、製造粕類、動物質飼料、ビタミン、ミネラル、その他原材料から構成される組成物が挙げられる。上記穀類、豆類およびイモ類としては、例えば、トウモロコシ、マイロ（グリーンソルガム）、小麦、大麦、ライ麦、エン麦、小麦粉、玄米、アワ、大豆、キナコおよびキャッサバなどが挙げられる。上記油粕類としては、例えば、大豆油粕、脱皮大豆油粕、綿実油粕、菜種油粕、ラッカセイ油粕、アマニ油粕、ゴマ油粕、ヤシ油粕、ヒマワリ油粕、サフラワー油粕、パーム核油粕およびカボック油粕などが挙げられる。上記ヌカ類としては、例えば、生米ヌカ、白酒ヌカ、脱脂米ヌカ、フスマおよび大麦混合ヌカなどが挙げられる。上記製造粕類としては、例えば、コーングルテンフィード、コーングルテンミール、澱粉粕、糖蜜、しょうゆ粕、ビール粕、ビートパルプ、バガス、豆腐粕、麦芽根およびみかんジュース粕などが挙げられる。上記動物質飼料としては、例えば、魚粉、ホワイトフィッシュミール、フィッシュソリュブル、フュッシュソリュブル吸着飼料、肉粉、肉骨粉、血粉、フェザーミール、カニミール、エビミール、蚕よう油粕、脱脂粉乳、乾燥ホエーおよび動物性油脂などが挙げられる。上記ミネラルとしては、例えば、食塩、塩化カリウム、クエン酸鉄、水酸化アルミニウム、炭酸マグネシウム、乳酸カルシウム、硫酸マグネシウム、リン酸二水素ナトリウム、クエン酸第二鉄、硫酸第一鉄、ヨウ化カリウム及びヨウ素酸カリ

ウム等が例示できる。上記以外にも、大豆油、菜種油、コーン油、ゴマ油などの植物性油脂、ビール酵母、トルラ酵母、アルファルファミール、みかん皮、コーンコブミール、昆布、ワカメ、淡水産および海産クロレラ、セルロースパウダーおよびカルボキシルセルロースなどのビタミンミックスなどが挙げられる。

【0022】

本発明の固形飼料を与える対象魚種は格別限定されることはなく、ニジマス、ヒメマス、シロザケ、アユ、アマゴ、ヤマメ、カンパチ、ハマチ、タイ、コイまたはウナギ、ブリ、スズキ、トラフグ、ヒラメ、金魚などの全ての海産魚類および淡水魚類が含まれる。さらに、甲殻類も含まれ、その具体例としては、クルマエビ、ウシエビ、テナガエビ、ガザミ、イセエビ、大正エビ、ウエスタンホワイトシュリンプ、ペナウスメルグイエンシス、ペナウスインディカス、メタペナウスエンシス、ペナウススチリロストリス、アカエビ、ハコエビ、ウチワエビ、アカザエビ、タラバエビ、サクラエビ、シャコ、ブローン、ザリガニ、ロブスター、ズワイガニ、タラバガニ、ワタリガニ、マッドクラブ、上海ガニ、ヤドカリなどがある。

【0023】

次に実施例を挙げて本説明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれにより制限されるものではない。実施例中の％は質量基準である。

【0024】

実施例1

魚粉、小麦粉、大豆粕、魚油を重量比で60％、小麦粉15％、大豆粕5％、魚油20％となるように配合し、練り込みしやすくするために水を魚油と同重量分加えた。十分に混合・練り込み後、径が1.4mm程度になるように成型し、120℃で乾燥した。3hr乾燥後水分が5％となったので、乾燥を終了した。

次にアスコルビン酸-2-リン酸エステルマグネシウム塩（APM）を5000ppmけん濁した魚油を調製し、乾燥後の上記飼料を浸漬させた。浸漬前後で飼料重量は5％増加していた。増加重量から算出すると添加されたAPMは250ppmであったことが分かった。またこの飼料からAPMを抽出し、定量したところ234ppmであった。

本飼料を40℃で保存し、1日目、3日目、5日目、10日目に同様の方法でAPMを抽出し定量したところ、表1に示す値となった。また、調製後すぐに分析した234ppmに対する残存率も合わせて記載する。

【0025】

【表1】

	1日目	3日目	5日目	10日目
APM含量	227	225	225	222
残存率	97%	96%	96%	95%

【0026】

APM分析法

飼料を十分に粉碎後、1%メタリン酸水溶液：クロロホルム（1：1）で振とう抽出する。水層を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）にて分析

HPLC条件

カラム：SHODEX（昭和電工（株）登録商標）J-411

溶離液：アセトニトリル：0.05M-KH₂PO₄ = 60：40

（w/w）

流速：1.0ml/min

検出：UV 波長257nm

【0027】

実施例2

実施例1で製造した固形飼料を調製後すぐに表面を薄く削り取った（厚さ約1mm）。削り取った重量が0.53g、残りの中心部の重量0.90gであった。削り取った部分のAPM含量を測定したところ510ppm、中心部のAPM含量75ppmであった。

【0028】

実施例3

APMの代わりにアスコルビン酸-2-リン酸エステルナトリウム塩とアスコルビン酸-2-リン酸エステルカルシウム塩を用いた以外は全く同じ条件で飼料を調製しそれらの飼料中の含量を経時的に測定した。結果を表2、3に記す。な

お、調製直後の安定化ビタミンCの含量はそれぞれ230ppm、225ppmであった。分析はAPMと同じ方法で行った。

【0029】

【表2】

アスコルビン酸-2-リン酸エステル ナトリウム塩

	1日目	3日目	5日目	10日目
含量	225	224	222	220
残存率	98%	97%	97%	96%

【0030】

【表3】

アスコルビン酸-2-リン酸エステル カルシウム塩

	1日目	3日目	5日目	10日目
含量	220	219	215	215
残存率	98%	97%	96%	96%

【0031】

実施例4

APM0.5g、水49.5gを混合して溶解させたものを水相とし、大豆油50gおよびヘキサグリセリン縮合リシノレイン酸エステル（理研ビタミン（株）製、ボエムPR-300、HLB：1.7）5gを混合して80℃で溶解させたものを油相とした。該油相に前記水相をゆっくり添加しながらホモミキサーを用いて60℃で、6000rpm、20分間乳化混合し、乳化物を得た。本乳化物を実施例1に記載の方法で乾燥まで終了した飼料10gに対し0.5gを噴霧し、風乾した。風乾後、飼料中のAPM含量を測定したところ、228ppmであった。

【0032】

実施例5

APM0.5gを水99.5gに溶解しAPM水溶液を得た。本水溶液を実施例1に記載の方法で乾燥まで終了した飼料10gに0.5g噴霧し、風乾した。風乾後、飼料中のAPM含量を測定したところ、230ppmであった。

【0033】

実施例6

APMを10%けん濁した魚油を使用したこと以外は実施例1と全く同じ方法で固形飼料を調製した。増加重量から算出すると添加されたAPMは5000 ppmであることが分かった。また、この飼料からAPMを抽出し定量したところ4900 ppmであった。

本飼料を40℃で保存し1日目、3日目、5日目、10日目の残存率を定量したところ、それぞれ98%、96%、95%、95%であった。

【0034】

比較例1

APMの代わりにL-アスコルビン酸カルシウム塩(ASC)を用いた以外は実施例1と全く同じ方法で飼料を調製した。調製直後に飼料からASCを抽出定量したところ220 ppmであった。実施例1と同様に40℃でのASCの保存安定性を表4に記載する。

【0035】

【表4】

	1日目	3日目	5日目	10日目
ASC含量	180	110	66	11
残存率	82%	50%	30%	5%

【0036】

ASC分析法

飼料を十分に粉碎後、1%メタリン酸水溶液：クロロホルム(1：)でしんと抽出する。水槽を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて分析

HPLC条件

カラム：SHODEX(昭和電工(株)登録商標)J-411

溶離液：アセトニトリル：0.05MKH₂PO₄=6：4(v：v)

温度：40℃

流速：1.0ml/min

検出：UV 波長256nm

【0037】

比較例2

魚粉、小麦粉、大豆粕、魚油とともに、APMを200ppmになるように加えた以外は実施例1と同じ配合比率で飼料原料を混合・練り込み、成型後120℃で3時間乾燥した。得られた固形飼料からAPMを抽出し、定量したところ、APM含量は58ppmであり、添加量の29%が残存していた。

固形飼料を調製後すぐに表面を薄く削り取った（厚さ約1mm）。削り取った部分のAPM含量を測定したところ50ppm、中心部のAPM含量は62ppm、APM存在比率は中心部：削り取った部分＝68：32であった。

【0038】

【発明の効果】

本発明の養魚用固形飼料のように、表面近傍に多割合または多量の安定化ビタミンCが存在すると、十分なビタミンC力価を有し、しかも経時的に安定な養魚用固形飼料となる。固形飼料を大径化したり、固形飼料中に植物油および／または動物油を多量に含有せしめても十分なビタミンC力価を保ち、かつ経時安定性にも優れている。

特に、養魚用飼料の混練物を成形し、乾燥した後に、乾燥された成形物を、液体に溶解または乳化または分散させた安定化ビタミンCと接触させることによって調製したものは、著しく経時安定性に優れている。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.